



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Utilitat del cribratge d'antigen criptocòccic en pacients infectats per VIH a l'inici de la TAR a l'Àfrica subsahariana

Samira Martínez Otero

Grau de Medicina

Tutor: Dr. Vicenç Falcó

Treball Fi de Grau

**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Facultat de Medicina

**Unitat Docent: Hospital
Vall d'Hebron**

Barcelona, 31 de Maig 2016

ÍNDEX

Resum/Resumen/Abstract	3
Introducció	5
Antecedents i estat actual.....	5
Meningitis criptocòccica.....	5
Epidemiologia	6
Presentació clínica.....	6
Diagnòstic	7
Tractament.....	7
Pronòstic.....	9
Disminució de la mortalitat per meningitis criptocòccica	10
TAR i tractament de la meningitis criptocòccica.....	10
Screening i profilaxi.....	11
Mètodes de screening	11
Rellevància d'antigenèmia positiva	13
Tractament profilàctic	15
Cost-efectivitat del cribratge	16
Introducció de la TAR	17
Tipus de SIRI	18
Incidència de SIRI segons el moment d'introducció de la TAR.....	19
Justificació	21
Objectius.....	22

Mètodes	22
Disseny.....	22
Mostra	23
Determinació d'antigen criptocòccic	23
Protocol	23
Variables	24
Anàlisi de dades	25
Aspectes ètics.....	25
Bibliografia	27

RESUM

Antecedents: Malgrat la TAR, la incidència de meningitis criptocòccica (MC) en pacients VIH positius i la mortalitat per aquesta causa continuen sent elevades a l'Àfrica subsahariana. La detecció de antigen criptocòccic per LFA (lateral flow assay) és un mètode de cribratge barat, senzill i sensible, aplicable al moment del diagnòstic de VIH abans de l'inici de TAR que prediu amb alta fiabilitat la probabilitat de desenvolupar MC.

Objectius: Revisar l'evidència en relació a les estratègies de cribratge i tractament profilàctic de la infecció criptocòccica en pacients VIH positius. Proposar un estudi per a determinar la prevalença d'infecció criptocòccica a l'Hospital Nossa Senhora de Paz de Cubal a Angola i valorar l'evolució clínica i mortalitat.

Mètodes: Revisió de literatura al PubMed. Disseny d'estudi prospectiu per analitzar la prevalença d'infecció criptocòccica mitjançant la detecció d'antigen criptocòccic amb LFA en pacients VIH+ amb CD4 <100 cèl·lules/ μ l en un àmbit rural a l'Àfrica subsahariana. Anàlisi d'evolució a MC i mortalitat.

RESUMEN

Antecedentes: A pesar de la TAR, la incidencia de meningitis criptocócica (MC) en pacientes VIH positivos y la mortalidad por esta causa continúan siendo elevadas en África subsahariana. La detección de antígeno criptocócico por LFA (lateral flow assay) es un método de cribado barato, sencillo y sensible, aplicable en el momento del diagnóstico de VIH antes del inicio de TAR que predice con alta fiabilidad la probabilidad de desarrollar MC.

Objetivos: Revisar la evidencia en relación a las estrategias de cribado y tratamiento profiláctico de la infección criptocócica en pacientes VIH positivos. Proponer un estudio para determinar la prevalencia de infección criptocócica en el Hospital Nossa Senhora de Paz de Cubal de Angola y valorar la evolución clínica y mortalidad.

Métodos: Revisión de literatura en PubMed. Diseño de un estudio prospectivo para analizar la prevalencia de infección criptocócica mediante la detección de antígeno criptocócico por LFA en pacientes VIH+ con CD4 <100 células/μl en un ámbito rural de África subsahariana. Análisis de evolución a MC y mortalidad.

ABSTRACT

Background: Despite ART, the incidence of cryptococcal meningitis (CM) in HIV positive patients and mortality due to this disease are still high in sub-Saharan Africa. Cryptococcal antigen detection with LFA is a cheap, simple, sensitive screening tool which accurately predicts the probability of developing CM and can be used at diagnosis of HIV infection before initiating ART.

Objectives: Revising the evidence on the screening strategies and prophylactic treatment of cryptococcal infection in HIV positive patients. We propose a study to determine the prevalence of cryptococcal infection in Nossa Senhora de Paz de Cubal Hospital in Angola and to evaluate clinical evolution and mortality.

Methods: Review of the literature on PubMed. We designed a prospective study to analyze the prevalence of cryptococcal infection by cryptococcal antigen detection with LFA in HIV+ patients with CD4 <100 cells/μl in a rural area in sub-Saharan Africa. We will also analyze the evolution to CM and mortality.

INTRODUCCIÓ

Antecedents i estat actual

Amb la introducció de la teràpia antiretroviral (TAR) al 1996 als països desenvolupats la incidència de les infeccions oportunistes del sistema nerviós central (SNC), com la meningitis criptocòccica, meningitis tuberculosa, toxoplasmosi cerebral, i leucoencefalopatia multifocal progressiva, ha caigut de manera molt marcada⁽¹⁾. Tot i això, continuen representant una important càrrega de malaltia en els pacients infectats de VIH (virus de la immunodeficiència humana) sobretot en zones on l'accés a TAR és limitat, com a l'Àfrica subsahariana (on només un 37% dels candidats a TAR la reben⁽²⁾) i al sud-est asiàtic.

Les infeccions oportunistes del SNC sempre s'han de sospitar en pacients amb infecció per VIH avançada, ja que sol ocórrer en pacients amb CD4 < 200 cèl·lules/ μ l. També poden ser la forma de presentació d'una infecció per VIH, o poden ser desemmascarades per l'inici de la TAR. El diagnòstic es basa en el conjunt de la presentació clínica, evolució temporal, i característiques radiològiques i del líquid cefaloraquidi (LCR)⁽¹⁾.

Dins d'aquestes infeccions, és d'especial rellevància la meningitis criptocòccica (MC) per ser una causa important de mortalitat en pacients VIH positius arreu del món, ja que fins i tot en centres de referència amb tractaments adequats disponibles, la mortalitat als 6 mesos és al voltant de 40%⁽²⁾.

Meningitis criptocòccica

El *Cryptococcus neoformans* és un llevat encapsulat que es troba a la terra i als excrements de colom sobretot en regions tropicals i subtropicals. L'exposició és

probablement via la inhalació d'espores que causen una infecció primària pulmonar, infecció latent o infecció disseminada⁽¹⁾.

La infecció per criptococ es produeix en pacients amb immunitat cel·lular afectada, per causa de VIH en el 95% dels casos als països pobres i 80% als rics (l'altre factor de risc important són els fàrmacs immunosupressors). La presentació clínica més freqüent és la MC, però de vegades hi ha presentacions no meníngies (pulmonar, cutània, malaltia disseminada en pacients severament immunodeprimits....)⁽³⁾.

Epidemiologia

La MC és la causa més freqüent de meningitis a molts països de l'Àfrica subsahariana⁽⁴⁾, i és la principal causa de mortalitat en pacients amb SIDA (20-25%)⁽⁵⁾, principalment per un accés tardà i incomplet a TAR. Afecta unes 957 900 persones/any, amb un estimat de 720 000 casos a l'Àfrica subsahariana⁽²⁾, on produeix >500 000 morts anuals⁽⁵⁾. Principalment afecta a pacients molt immunodeprimits amb CD4 <100 cèl·lules/ μ l⁽³⁾ i TAR naïf, però s'està veient un augment de MC durant els 3 primers mesos de TAR⁽²⁾.

Presentació clínica

La MC es presenta generalment en forma de cefalea subaguda i confusió. Les característiques típiques de meningisme es veuen en menys del 20% dels pacients. El 40% cursa amb afectació ocular: papil·ledema, uveïtis i corioretinitis⁽³⁾. Produeix hidrocefàlia comunicant en >15% per disminució de la reabsorció de LCR amb la subseqüent elevació de la pressió intracranial (PIC) i clínica d'hipertensió endocranial. El maneig agressiu d'aquesta elevació de PIC és cabdal en la disminució de la mortalitat⁽¹⁾.

Diagnòstic

Per confirmar una MC és necessària la realització d'una punció lumbar (PL) i examen del LCR. El líquid sol ser inflamatori amb pleocitosi limfocitària, però pot ser normal en un 10-17%⁽³⁾. El gold standard per al diagnòstic és el cultiu i tinció amb tinta xinesa de LCR. Clínicament resulta molt útil la manometria ja que típicament s'observa una elevació de la pressió d'obertura⁽¹⁾.

Com a alternativa diagnòstica existeix la detecció d'antigen criptocòccic (CRAG) en LCR per immunoassaig, amb test d'aglutinació de làtex (LA) o ELISA (de l'anglès enzyme-linked immunosorbent assay) i més recentment l'assaig de flux lateral (LFA), un mètode ràpid, sensible, específic i amb bon valor pronòstic. També es pot recórrer la detecció d'antigen urinari amb LFA, mètode prou sensible i útil en contextos de pocs recursos^(3,6).

Tractament

El tractament de la MC es basa en 4 pilars:

1. **Maneig PIC:** és essencial en la disminució de la mortalitat. Les guies recomanen PLs seriades si pressió d'obertura $>25\text{cm H}_2\text{O}$ per reduir la pressió al 50% o a nivells de normalitat ($<20\text{ cm H}_2\text{O}$), o derivació ventrículo-peritoneal si no es controla amb les PLs⁽¹⁾. La pressió d'obertura de LCR alta està relacionada amb l'alteració de la consciència però no directament amb mortalitat si es fa un control estricte de la PIC⁽⁷⁾. De fet, una pressió alta d'obertura ben controlada sembla estar relacionada amb millor evolució a les 10 setmanes, probablement perquè les citokines proinflamàtores relacionades amb PIC alta són protectores⁽⁷⁾.

2. **Tractament antifúngic** segons les guies de l'Organització Mundial de la Salut (OMS)⁽⁸⁾ presenta les següents fases:
- Inducció:** les guies insisteixen en l'ús de fungicides potents per a optimitzar l'aclariment de LCR durant les primeres 2 setmanes. Es recomana amfotericina B 0.7-1mg/kg/dia i flucitosina 100mg/kg/dia 2 setmanes (si no és possible: mínim 5-7d⁽³⁾). Un dels problemes d'aquesta teràpia és el fet que aquests fàrmacs tenen baixa disponibilitat a països amb pocs recursos per cost i dificultat d'administració. Si la flucitosina no està disponible (no té llicència a molts països africans i asiàtics) l'OMS recomana una alternativa subòptima que és la combinació d'amfotericina B amb fluconazol 800-1200mg/dia. Si no està disponible l'amfotericina B la combinació de fluconazol 800-1200mg/dia i flucitosina 100mg/kg/dia ha demostrat una disminució de mortalitat respecte la monoteràpia amb fluconazol. Si ni amfotericina B ni flucitosina són disponibles l'OMS recomana monoteràpia de fluconazol 1200mg/d.
 - Consolidació:** 8 setmanes de fluconazol 400mg/d, 800mg si inducció amb una pauta diferent del gold standard amfotericina B + flucitosina.
 - Manteniment o profilaxi secundària:** 200mg/d de fluconazol fins reconstitució immune (CD4 >200 cèl·lules/ μ l) si inducció i consolidació fungicides i TAR correcta (les recaigudes semblen ser poc probables⁽³⁾).
3. **Inici TAR al moment adequat:** sospesar mortalitat precoç per immunosupressió avançada contra el risc recuperació immune accelerada (s'explicarà més endavant).
4. **Maneig de la síndrome inflamatòria de reconstitució immune (SIRI):** també explicat més endavant.

Pronòstic

El pronòstic de la MC sense teràpia antifúngica és nefast, amb una mortalitat de 100% en pacients amb CD4 <100 cèl·lules/ μ l, i 75% en global . A EEUU amb amfotericina B + flucitosina s'ha observat una mortalitat <10%, a Àfrica amb fluconazol s'observen resultats pobres, sembla ser que amb dosis més altes (800mg en comptes de 400mg en fase de consolidació) es podria millorar la supervivència⁽⁹⁾.

Una cohort del 2014 a Tailàndia, Sud-àfrica, Malawi i Uganda va determinar uns predictors de mortalitat independents⁽⁷⁾ a 2 i 10 setmanes d'evolució de la MC tractada:

- 2 setmanes (mortalitat de 17%): les morts durant aquest període van ser atribuïdes principalment a la MC en si.
- 1. **Alteració estat mental**: multiplica per 3 el risc de mortalitat. Al seu torn, l'alteració de l'estat mental està associada al sexe masculí, edat >50 anys i pressió d'obertura de LCR molt elevada.
- 2. Alta **càrrega fúngica** al LCR: implica que la detecció més precoç (i per tant amb menys càrrega fúngica) redueix la mortalitat. L'alta càrrega fúngica està relacionada amb baix recompte de CD4 i baixa resposta inflamatòria al lloc de la infecció, ja que nivells alts de IFN- γ , TNF- α , IL-6 estan relacionats amb un aclariment de LCR més alt.
- 3. Baix **aclariment** de LCR del fong o activitat fungicida precoç: probablement aquest fenomen també explica perquè la mortalitat entre els pacients tractats amb monoteràpia amb fluconazol (fungistàtic) va ser el doble respecte els tractats amb amfotericina B (fungicida).
- 4. **Edat avançada**: >50 anys multiplica per 4 el risc de mortalitat.
- 5. **Leucocitosi**

- 10 setmanes (mortalitat de 34%): les morts durant aquest període, en canvi, eren atribuïbles, sobretot, a altres causes relacionades a VIH, evitables amb introducció de TAR al més aviat possible.

1. Alteració estat mental
2. Alta càrrega fúngica
3. Edat avançada
4. Baix pes corporal
5. Baixa pressió d'obertura de LCR
6. Leucocitosi
7. Anèmia

Disminució de la mortalitat per meningitis criptocòccica

Com s'ha mencionat, la MC és una malaltia amb un pronòstic bastant desfavorable que produeix més de mig milió de morts anuals a l'Àfrica subsahariana. Per tant, representa una problemàtica important per a la qual s'han anat desenvolupat estratègies per intentar disminuir-ne la mortalitat. Les estratègies es podrien agrupar en tres grans grups segons el moment d'intervenció en la història natural de la malaltia:

1. TAR i tractament de la MC ja instaurada
2. Cribratge de l'antigen criptocòccic en pacients asimptomàtics i profilaxi
3. Determinació del moment idoni per a la introducció de la TAR per a evitar la SIRS

TAR i tractament de la meningitis criptocòccica

La primera mesura que s'ha de prendre és millorar l'accés a proves de detecció de VIH i a TAR al més aviat possible en l'evolució de la infecció per VIH. Un cop tenim una MC

ja instaurada s'ha d'implementar el tractament més òptim establert fins el moment. El maneig de la MC però, té dos grans inconvenients en països de baixa renda: en primera implica una hospitalització, de vegades bastant prolongada, que resulta molt cara; i en segona la disponibilitat dels fàrmacs més indicats és baixa pels mateixos motius econòmics. Això remarca la necessitat de detectar la infecció criptocòccica abans que es manifesti la MC per poder evitar l'hospitalització i la necessitat d'aquests fàrmacs.

Screening i profilaxi

La segona mesura per disminuir la mortalitat està centrada precisament en prevenir l'aparició de MC mitjançant una detecció precoç de l'antigen criptocòccic en pacients VIH positius asimptomàtics, i el tractament profilàctic d'aquests. En aquest sentit s'han realitzat diversos estudis amb l'objectiu de determinar la sensibilitat de les proves de screening, la reducció de l'incidència de MC i de la mortalitat, i la relació cost-efectivitat de realitzar aquests tests abans de l'inici de TAR vs no realitzar-los i tractar la MC un cop dona la cara.

Les proves usades per al cribratge són proves de detecció d'antigen criptocòccic en sèrum (CRAG). La detecció de CRAG precedeix en una mitjana de 22 dies l'aparició dels símptomes, i aproximadament un 11% dels pacients presenten antigen positiu >100 dies abans dels símptomes⁽¹⁰⁾. Aquest test rarament dona un resultat positiu en pacients amb CD4 >100 cèl·lules/ μ l. Com anirem veient, gràcies a diversos estudis, els pacients amb CRAG positiu tenen alt risc de desenvolupar una MC i alta mortalitat⁽²⁾.

Mètodes de screening

Immunoassaig convencional: consisteix en la detecció d'un polisacàrid capsular criptocòccic (glucoronoxilmanà) en sèrum per LA (test d'aglutinació de làtex) o

ELISA. Els tests en sèrum, plasma i orina són molt fiables amb ELISA⁽⁶⁾. Aquestes tècniques requereixen inactivació per calor, refrigeració dels reactants, infraestructures i experts de laboratori⁽²⁾, a més, són massa cars per poder-se utilitzar de manera estàndard a la majoria de països africans⁽⁶⁾.

CRAG lateral flow assay (LFA): aprovat al 2011 per la Food and Drug Administration.

És una prova ràpida al lloc d'atenció que consisteix en un assaig d'immunocromatografia amb stick que dona resultats en aproximadament 10-15 minuts. Requereix un gota de sèrum, plasma, orina o LCR⁽²⁾. Els avantatges respecte l'immunoassaig convencional són que no necessita electricitat, ni laboratori, ni personal especialitzat, és estable a temperatura ambient i té un preu aproximat de \$2.5 (tenint en compte personal, transport, i instal·lacions)⁽¹¹⁾. Es va validar en una cohort tailandesa en la qual comparant amb ELISA es va trobar una sensibilitat de LFA de 96% en sèrum en pacients amb cultiu negatiu⁽²⁾. Un altre estudi similar, però que també analitzava plasma i orina, va trobar una correlació entre els dos mètodes de 0.93 per sèrum i 0.94 per plasma i orina, a més es va concloure que sèrum i plasma es poden usar indistintament ja que es va observar una correlació de títols de CRAG en sèrum i plasma d'1.00⁽⁶⁾. Una cohort d'Uganda va trobar >99% de sensibilitat de LFA en LCR o plasma⁽²⁾.

S'ha demostrat que els títols pretractament de CRAG LFA es correlacionen amb la càrrega fúngica i estan relacionats amb la mortalitat a les 2 i 10 setmanes. Als països amb baixa renda, on cultius no són fàcilment disponibles, CRAG LFA a LCR pot jugar un rol important en el diagnòstic de MC. LFA al LCR podria ser més sensible que el cultiu en etapes inicials i s'ha vist que té una sensibilitat i especificitat al LCR de 100%⁽¹¹⁾. Per tant també serà molt útil en confirmar o excloure MC en pacients amb CRAG en sèrum positiu. El test LFA, per contra, no s'hauria d'utilitzar per monitoritzar

la resposta al tractament ja que l'eliminació de la càpsula és més lenta i independent de la mort del llevat⁽¹¹⁾.

Tenint en compte els avantatges d'aquesta prova i l'alta sensibilitat, s'entén que sigui un test extremadament útil en situacions de pocs recursos com a cribratge en pacients asimptomàtics, i com a eina diagnòstica en pacients simptomàtics.

Rellevància d'antigenèmia positiva

Per aplicar mètodes de screening és important establir la relació entre una prova positiva i el desenvolupament de la malaltia i la mortalitat.

Diversos estudis han permès demostrar que en pacients VIH+ asimptomàtics, CRAG+ és un predictor de mortalitat independent. Un estudi retrospectiu de detecció de CRAG a Uganda en pacients VIH positius, TAR naïf amb CD4 <100 cèl·lules/ μ l va determinar que el risc atribuïble a CRAG+ era un 18%, similar a la mortalitat atribuïble a TB (19%)⁽²⁾.

En un altre estudi retrospectiu a Tailàndia en pacients VIH positius, TAR naïf asimptomàtics, en un any des del test el 33% dels CRAG+ van desenvolupar infecció criptocòccica, i només 0.8% dels CRAG- ho van fer⁽²⁾.

Un estudi retrospectiu a Sud-àfrica va mesurar CRAG amb LA al sèrum de pacients asimptomàtics candidats a TAR que no havien rebut profilaxi amb fluconazol. 13% dels CD4 <100 cèl·lules/ μ l eren CRAG+. Dels CRAG+ 28% desenvoluparen MC en el curs d'un any, 56% eren vius sense MC a l'any. Dels CRAG- cap va desenvolupar MC. 34% dels CRAG+ i 11% dels CRAG- van morir durant el primer any. Es va concloure que l'antigenèmia positiva era un factor predictiu independent per desenvolupar MC i de mortalitat, i que les probabilitats estaven directament relacionades amb els títols

d'antigen. 91% dels CRAG+ tenien CD4 <100, cosa que permet deduir que les proves de screening seran beneficioses sobretot en aquesta població⁽¹²⁾.

Com estem veient, però, escassegen dades prospectives de l'eficàcia del screening i guies d'actuació enfront pacients CRAG+⁽¹³⁾.

Per intentar produir dades prospectives al 2015 a Sud-àfrica es va realitzar una cohort prospectiva de screening amb LA i LFA de pacients sense antecedent de MC, TAR naïfs amb CD4<100 cèl·lules/ μ l. Als pacients CRAG+ se'ls realitzava PL per excloure MC subclínica. Si CRAG a LCR era negatiu (no MC) s'iniciava una teràpia profilàctica amb fluconazol 800mg durant 2 setmanes, 400mg/d durant 8 setmanes, 200mg després fins a reconstitució immune. La TAR s'iniciava 2-4 setmanes després de l'inici de profilaxi amb fluconazol. Cap pacient CRAG+ que va rebre profilaxi amb fluconazol va desenvolupar MC, però la mortalitat global va ser significativament superior al grup CRAG+ que al CRAG-. Comparant aquest estudi prospectiu amb cohorts històriques sense profilaxi on la incidència de MC entre els CRAG+ va ser del 28%, el cribratge amb CRAG + profilaxi antifúngica mostra una disminució de la mortalitat per MC.

Aquests resultats recolzen que la teràpia antifúngica i inici de TAR als temps adequats en pacients CRAG+ evita el desenvolupament de MC i SIRS durant el primer any de TAR. L'estudi també va concloure que la mortalitat dels CRAG+ era major que la dels CRAG-, malgrat la teràpia antifúngica. La possible explicació que es va donar és que els pacients CRAG+ també tenen més risc de morir d'altres malalties relacionades amb SIDA, i que l'antigen pot tenir efectes immunosupressors⁽¹³⁾.

Amb aquests estudis concloem que la detecció de CRAG per LFA abans d'iniciar TAR en pacients VIH permet identificar els pacients a risc de presentar la malaltia i que en pacients CRAG+ el tractament profilàctic redueix la incidència de malaltia i mortalitat.

Tractament profilàctic

Per implementar la prova de screening, a més de la relació entre el resultat del screening el desenvolupament de la malaltia, ha d'existir un tractament eficaç que disminueixi la incidència de la malaltia i la mortalitat .

Com hem mencionat anteriorment, les pautes de tractament profilàctic en pacients CRAG+ no estan ben definides. Tot i això, certs estudis, com la cohort prospectiva sud-africana de 2015, deixen bastant clar que la profilaxi sí disminueix la mortalitat. Aquests estudis han permès a l'OMS elaborar recomanacions sobre el cribratge de MC i profilaxi antifúngica.

Les recomanacions actuals de l'OMS són de fer un screening de CRAG en zones d'alta prevalença de malaltia criptocòccica en pacients amb CD4 <100 cèl·lules/ μ l abans de començar TAR. Els pacients CRAG+ han de ser avaluats clínicament per símptomes de MC i s'ha de valorar la realització d'una PL. En els simptomàtics es recomana realitzar una PL per descartar una MC.

Ara bé, és complicat oferir PLs tots els pacients CRAG+ en programes de TAR a l'Àfrica, a més molts pacients no accepten aquesta prova invasiva si estan asimptomàtics. La cohort prospectiva a Sud-àfrica de 2015 va trobar que entre els pacients CRAG+ que van refusar la PL però van fer tractament profilàctic amb fluconazol (com veurem a continuació) cap va desenvolupar MC, recolzant que potser la profilaxi amb fluconazol més TAR són suficients per prevenir la MC⁽¹³⁾.

Si clínicament els pacients estan asimptomàtics o CRAG a LCR és negatiu, es considera que tenen una infecció criptocòccica subclínica i s'instaura un tractament profilàctic amb fluconazol 800mg 2 setmanes + 400mg 8 setmanes⁽²⁾.

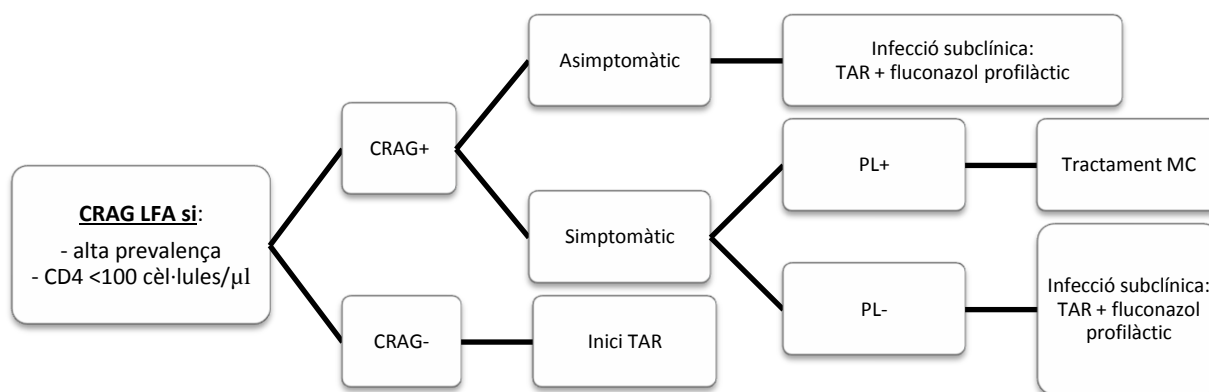


Figura 1: Algoritme de screening i profilaxi de MC

Cost-efectivitat del cribratge

Una anàlisi per intentar determinar la relació cost-efectivitat del cribratge per CRAG amb LA va ser duta a terme al 2010 a Uganda. El nombre de pacients amb CD4 <100 cèl·lules/μl que s'havien de cribrar per detectar un CRAG+ va ser de 11.3. Per salvar una vida s'havia de cribrar i tractar amb fluconazol 15.9 persones; tenint en compte una mortalitat de 75% en CRAG+ amb CD4<100 cèl·lules/μl sense fluconazol, i 25% amb fluconazol⁽¹⁴⁾.

Es va determinar que per una prevalença d'antigenèmia positiva asimptomàtica inferior a 3% els costos del cribratge i profilaxi superen els del tractament de MC.

Els resultats de l'estudi demostren la cost-efectivitat de cribrar per CRAG en zones de recursos limitats en pacients que inicien TAR, sobretot si CD4 <100 cèl·lules/μl, quan la prevalença d'antigenèmia asimptomàtica és >3%⁽¹⁴⁾.

Tot i així, aquesta anàlisi no va tenir en compte factors com la disminució d'hospitalitzacions i menys ús d'antifúngics en pacients cribrats. A més, la tècnica usada va ser l'aglutinació amb làtex, una tècnica molt més cara que el LFA. Per tant,

podem assumir que la relació cost-efectivitat és encara més beneficiosa que la trobada a l'estudi, sobretot utilitzant el mètode de screening de LFA.

Amb aquest estudi podem concloure que en pacients CRAG+ fluconazol més TAR redueixen la mortalitat, però la duració i dosis del tractament no estan ben definides⁽²⁾. Aquesta estratègia sembla ser cost efectiva i està recolzada per l'OMS⁽⁸⁾.

Una alternativa seria la profilaxi primària amb fluconazol a tots els pacients VIH+ amb CD4<100 cèl·lules/ μ l independentment de CRAG. Estudis a Tailàndia i Uganda que apliquen aquesta estratègia mostren una disminució de MC però no de mortalitat⁽¹⁵⁾ i s'ha vist un increment de les resistències de *Candida* a fluconazol⁽¹⁶⁾.

Introducció de la TAR

El tercer factor que influeix en la mortalitat dels pacients VIH positius és la síndrome inflamatòria de reconstitució immune (SIRI) quan s'inicia la TAR.

La **SIRI criptocòccica** es defineix com un empitjorament o nova presentació de malaltia criptocòccica després d'una reversió ràpida d'una immunodeficiència, en el cas de pacients amb VIH la reconstitució es produeix gràcies a la TAR⁽¹⁷⁾. En aquests pacients s'observa un augment de CD4 major que en els pacients que no desenvolupen SIRI. Aquesta reconstitució més accelerada del sistema immune comporta una resposta inflamatòria exagerada a antígens infecciosos i no infecciosos. La SIRI neurològica té pitjor pronòstic que la SIRI no neurològica, amb una mortalitat de 33-66%⁽¹⁾. Aquest fenomen s'explica pel fet que la SIRI del SNC inicia una inflamació en un espai no expansible que compromet les estructures intracranials⁽¹⁸⁾.

La SIRI en MC relacionada a VIH es produeix amb més freqüència en pacients amb CD4 basals baixos, i està influenciada pel moment d'introducció de la TAR⁽³⁾.

Tipus de SIRI

- Per desemascament: una infecció latent o criptococcosi subclínica per l'immunodeficiència avançada és revelada per l'inici de TAR⁽³⁾. Per tant, en aquest grup s'evitarien més episodis de SIRI amb un screening d'antigenèmia i profilaxi antifúngica.

La mitjana de presentació és de 4 setmanes després de l'inici de TAR i té un curs molt ràpid ja que evoluciona a malaltia greu en 1-2 dies (no 1-2 setmanes com la MC en pacients sense TAR)⁽¹⁷⁾. La presentació clínica no difereix molt de la progressió clínica de criptococcosi, per tant mentre no existeixi més evidència per discernir entre SIRI per desemascament i progressió de criptococcosi, potser és més correcte utilitzar el terme de criptococcosi associada a TAR⁽¹⁷⁾.

- Paradoxal: pacients que inicialment responen a la teràpia antifúngica però es deterioren en 12 mesos des de l'inici de TAR (temps de presentació des de 4 dies fins 3 anys, mitjana entre 1-10 mesos)⁽¹⁷⁾. En els casos en què la TAR s'inicia precoçment des del diagnòstic de MC pot ser difícil discernir si el deteriorament clínic és per progressió de la criptococcosi o per SIRI criptocòccica, al igual que passava en la SIRI per desemascament⁽¹⁸⁾.

Estudis a Sud-àfrica i Etiòpia estimen una incidència de 7-33% de SIRI en pacients amb MC tractada després de l'inici de TAR⁽³⁾. La SIRI paradoxal criptocòccica té una mortalitat entre 27 i 83% a l'Àfrica, i fins un 20% a Nord-Amèrica, Europa i Àsia⁽¹⁷⁾.

Diverses cohorts retrospectives han intentat identificar factors de risc per al desenvolupament de SIRI paradoxal, i senyalen com a predictors l'alta càrrega viral abans de TAR, inici de TAR precoç, i un augment molt important de CD4

durant els primers 6 mesos. No obstant, 3 cohorts prospectives no van senyalar aquests tres factors com a factors de risc per SIRS criptocòccica paradoxal⁽¹⁷⁾.

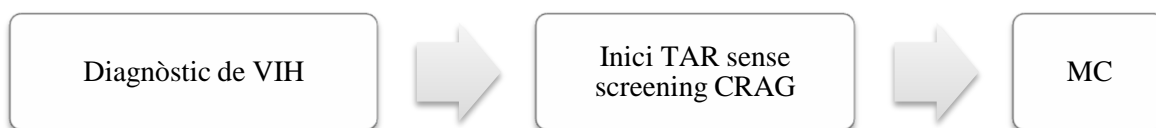


Figura 2: SIRS per desemmascament

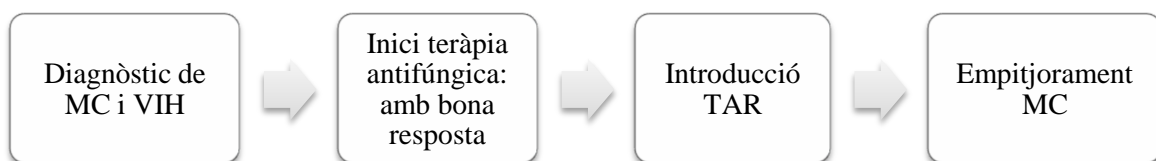


Figura 3 SIRS paradoxal

Incidència de SIRS segons el moment d'introducció de la TAR

La determinació del moment idoni per començar TAR en pacients amb MC depèn de la balança entre el benefici d'augment de supervivència per millor control del VIH, amb el risc de desenvolupar SIRS. El “timing” en infeccions de SNC podria variar respecte infeccions oportunistes no del SNC.

Hi ha diversos estudis que demostren el benefici d'inici precoç de TAR en TB, però amb MC les dades són limitades⁽²⁾.

Un assaig clínic randomitzat del 2010 a Zimbabwe en pacients amb MC en què un grup va iniciar TAR <72h des del diagnòstic, i un altre a les 10 setmanes de tractament amb fluconazol en monoteràpia, es va haver d'aturar quan es va demostrar una menor supervivència en pacients que rebien TAR precoç. Aquesta diferència de mortalitat es va atribuir probablement a SIRS, però no s'havien establert criteris objectius en aquest estudi per definir-la^(9,19).

En canvi en un altre assaig clínic randomitzat a Botswana al 2013 un grup va rebre TAR als 10 dies de l'inici de tractament antifúngic, i un altre als 31 dies. Es van seguir durant 24 setmanes i no es va veure diferència significativa en aclariment del LCR (outcome primari), però sí una reconstitució immune més precoç en el primer grup. La mortalitat va ser inferior en el grup de TAR precoç però amb una diferència estadísticament insignificant en un estudi amb poder insuficient⁽²⁰⁾.

En la cohort del 2014 a Tailàndia, Sud-àfrica, Malawi i Uganda per a la determinació de predictors de mortalitat independents no es va veure relació amb la introducció precoç i el desenvolupament de SIRS dintre del marc d'introducció de TAR entre 3-6 setmanes després de l'inici del tractament antifúngic⁽⁷⁾.

Vistos aquests resultats conflictius es va realitzar un assaig amb més pacients al 2014 (Cryptococcal Optimal ART Timing Trial) a Uganda i Sud-àfrica per comparar la mortalitat a les 26 setmanes amb inici de TAR 1-2 setmanes després de l'inici d'amfotericina o 5 setmanes després. L'inici diferit va mostrar una supervivència major que l'inici precoç, especialment en pacients amb VIH avançat (CD4<50), alteració consciència o falta de pleocitosi al LCR⁽¹⁸⁾.

Actualment es considera que la introducció de la TAR 4-10 setmanes després de l'inici de teràpia antifúngica en la MC és l'opció més segura⁽³⁾.

Ara bé, en els casos de CRAG+ en pacients asimptomàtics, no queda clar quin és el moment més idoni per començar la TAR.

JUSTIFICACIÓ

Amb els estudis analitzats veiem que en poblacions amb prevalença elevada d'infecció per VIH i poc accés a TAR hi ha una alta prevalença d'infecció criptocòccica, una malaltia amb alta mortalitat i que, per tant, interessa poder-la detectar i tractar abans de la seva expressió clínica.

La prova de screening de detecció de CRAG per LFA abans de l'inici de TAR ha demostrat ser un mètode pràctic, sensible i correlacionat amb la probabilitat de desenvolupar MC i amb la mortalitat. Així mateix, el tractament profilàctic amb fluconazol en pacients CRAG+ redueix la mortalitat. Aquesta estratègia de screening i profilaxi sembla ser cost-efectiva i està recolzada per l'OMS.

Ara bé, aquesta cost-efectivitat depèn del fet que la població on s'apliqui tingui una prevalença d'infecció criptocòccica relativament alta.

Pel que fa a la introducció de TAR els estudis suggereixen que en la MC establerta el més convenient és introduir-la entre 4 i 10 setmanes després de l'inici del tractament antifúngic per disminuir la incidència de SIRI paradoxal. En cas de pacients CRAG+ asimptomàtics no queda tan clar el moment d'introducció de TAR per evitar l'aparició de SIRI per desemmascament.

Des de fa diversos anys el servei de Malalties Infeccioses del nostre hospital, Vall d'Hebron, col·labora amb hospitals d'Angola, concretament amb l'Hospital Nossa Senhora da Paz de Cubal.

A Angola la prevalença d'infecció per *Cryptococcus neoformans* en pacients VIH positius és desconeguda. Amb les dades epidemiològiques disponibles sobre la incidència de meningitis criptocòccica a l'Àfrica subsahariana en general, però, podem

establir la nostra hipòtesi que a Angola la prevalença d'infecció criptocòccica serà elevada.

Dins d'aquest marc, hem dissenyat un estudi per a analitzar la prevalença d'infecció criptocòccica en aquesta població i determinar si estaria indicada la implantació d'un cribratge d'antigen criptocòccic previ a l'inici de TAR en pacients VIH+.

OBJECTIUS

L'objectiu primari és determinar la prevalença d'infecció criptocòccica en pacients amb infecció per VIH de l'Hospital Nossa Senhora de Paz de Cubal.

Els objectius secundaris són valorar l'evolució a MC i la resposta a tractament profilàctic amb fluconazol i TAR en pacients amb antigenèmia positiva.

MÈTODES

Disseny

Es tracta d'un estudi de prevalença d'infecció criptocòccica en pacients amb infecció per VIH i limfòcits CD4 < 100 cèl·lules/ μ l.

La població d'estudi consistirà en tots els pacients majors de 18 anys diagnosticats de VIH a l'Hospital Nossa Senhora de Paz de Cubal durant el període d'un any, que no hagin començat, ni hagin fet prèviament, tractament amb TAR.

Els criteris d'inclusió, per tant, seran: edat >18 anys, VIH+, CD4 < 100 cèl·lules/ μ l, TAR naïf. I els criteris d'exclusió: CD4 >100 cèl·lules/ μ l, estar en tractament amb o haver rebut TAR, MC ja diagnosticada.

Mostra

S'inclouran a l'estudi tots els pacients del centre que compleixin els criteris d'inclusió i no compleixin els d'exclusió ja que és un estudi observacional.

Determinació d'antigen criptocòccic

L'instrument de detecció de antigen criptocòccic serà el CRAG LFA (Cryptococcal antigen lateral flow assay) en sèrum. Aquesta prova resulta molt pràctica ja que no requereix electricitat, ni laboratori, ni personal especialitzat; a més el sèrum és la mostra que s'usa per al diagnòstic de VIH. El LFA en sèrum ha demostrat una sensibilitat de 96% comparat amb ELISA.

Protocol

Es realitzarà una determinació d'antigen criptocòccic en sèrum en tots els pacients que compleixin els criteris d'inclusió i no compleixin els d'exclusió abans d'iniciar el tractament antiretroviral.

En cas que l'antigenèmia sigui negativa es començarà immediatament la TAR. En cas que sigui positiva, encara que no presentin símptomes de meningitis criptocòccica, s'oferirà al pacient una punció lumbar per a la detecció d'antigen i cultiu del LCR.

Si la detecció de CRAG és negativa al LCR, o si no s'ha pogut realitzar la PL i el pacient no presenta cap signe ni símptoma de MC, es procedirà a iniciar profilaxi criptocòccica amb fluconazol 800mg/dia durant 2 setmanes i posteriorment 400mg/dia durant 8 setmanes. S'iniciarà TAR a les 2 setmanes de l'inici del tractament profilàctic per intentar evitar el desenvolupament de una SIRI.

Si la detecció de CRAG és positiva al LCR i s'iniciarà el tractament de la MC segons les guies actuals i segons la disponibilitat de fàrmacs:

- Fase d'inducció amb amfotericina B 0.7-1mg/kg/dia i flucitosina 100mg/kg/dia durant les primeres 2 setmanes (si no és possible: mínim 5-7d). Si la flucitosina no està disponible es combinarà fluconazol amb amfotericina B. Si no està disponible l'amfotericina B es combinarà fluconazol. Si ni amfotericina B ni flucitosina són disponibles s'optarà per monoteràpia de fluconazol 1200mg/d.
- Fase de consolidació de 8 setmanes amb fluconazol 400mg/d, 800mg si inducció amb monoteràpia de fluconazol.
- Manteniment amb 200mg/d de fluconazol fins reconstitució immune (CD4 >200 cèl·lules/ μ l).
- Inici de TAR a les 5 setmanes de la teràpia antifúngica.

Variables

En tots els pacients registrarem les següents variables en una base de dades codificada:

- Variables basals:
 - Variables demogràfiques: edat, sexe, procedència.
 - Variables clíniques: signes i símptomes
 - Anàlisi general
 - Limfòcits CD4
 - Càrrega viral si possible
- Resultat d'antigenèmia en sèrum
- Tractament, tant antifúngic com antiretroviral, administrat, moment d'introducció i duració del mateix

- Variables evolutives:
 - Duració de positivitat d'antigenèmia en sèrum
 - Canvis en limfòcits CD4 i càrrega viral si possible
 - Aparició de clínica
 - Incidència de MC tant en el grup CRAG+ com CRAG-
 - Mortalitat

Anàlisi de dades

Les dades s'analitzaran amb el programa estadístic SPSS. S'analitzarà la prevalença d'antigenèmia positiva i negativa en els pacients inclosos a l'estudi.

Les variables qualitatives com l'evolució o no a MC s'analitzaran amb el test de χ^2 . Les variables quantitatives com recompte limfocitari s'analitzaran amb la prova de t de Student.

Es realitzaran corbes de Kaplan-Meier per a comparar la supervivència entre els grups CRAG+, CRAG- i pacients amb MC.

Aspectes ètics

Se sol·licitarà consentiment informat, tant oral com escrit, a tots els pacients prèvia explicació adequada de l'estudi.

En cap cas els pacients seran sotmesos a proves invasives sense el seu consentiment explícit.

Totes les dades personals estaran encriptades a fi de protegir la confidencialitat dels pacients.

BIBLIOGRAFIA

1. Tan IL, Smith BR, von Geldern G, Mateen FJ, McArthur JC. HIV-associated opportunistic infections of the CNS. *Lancet Neurol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2012;11(7):605–17. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70098-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70098-4)
2. Rajasingham R, Meya DB BD. Integrating Cryptococcal Antigen Screening and Preemptive Treatment into Routine HIV care. *NIH Public Access*. 2013;59(5):612–25.
3. Sloan DJ, Parris V. Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options. *Clin Epidemiol* [Internet]. 2014;6(1):169–82. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84900559961&partnerID=tZOtx3y1>
4. Durski KN, Kuntz KM, Yasukawa K, Virnig BA, Meya DB, Boulware DR. Cost-effective Diagnostic Checklists for Meningitis in Resource Limited Settings. *NIH Public Access*. 2014;63(3):1–16.
5. Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, Govender N, Pappas PG CT. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS*. 2009;23:525–30.
6. Jarvis JN, Percival A, Bauman S, Pelfrey J, Meintjes G, Williams GN, et al. Evaluation of a novel point-of-care cryptococcal antigen test on serum, plasma, and urine from patients with HIV-associated cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis*. 2011;53(10):1019–23.
7. Jarvis JN, Bicanic T, Loyse A, Namarika D, Jackson A, Nussbaum JC, et al.

- Determinants of mortality in a combined cohort of 501 patients with HIV-associated cryptococcal meningitis: Implications for improving outcomes. *Clin Infect Dis.* 2014;58(5):736–45.
8. Disease C, Adults H, December C. Rapid Advice Diagnosis , Prevention and Management. 2011;(December).
 9. Makadzange AT, Ndhlovu CE, Takarinda K, Reid M, Kurangwa M, Gona P, et al. Early versus delayed initiation of antiretroviral therapy for concurrent HIV infection and cryptococcal meningitis in sub-saharan Africa. *Clin Infect Dis.* 2010;50(11):1532–8.
 10. French N, Gray K, Watera C et al. Cryptococcal infection in a cohort of HIV-1 infected Ugandan adults. *AIDS.* 2002;16(7):1031–8.
 11. Kabanda T, Siedner MJ, Klausner JD, Muzoora C, Boulware DR. Point-of-care diagnosis and prognostication of cryptococcal meningitis with the cryptococcal antigen lateral flow assay on cerebrospinal fluid. *Clin Infect Dis.* 2014;58(1):113–6.
 12. Jarvis JN, Lawn SD, Vogt M, Bangani N, Wood R, Harrison TS. Screening for cryptococcal antigenemia in patients accessing an antiretroviral treatment program in South Africa. *Clin Infect Dis.* 2009;48(7):856–62.
 13. Longley N, Jarvis J, Meintjes G, Boulle A, Cross A, Kelly N, et al. Cryptococcal Antigen Screening in Patients Initiating ART In South Africa: A Prospective Cohort Study. *Clin Infect Dis.* 2015;Epub:1–7.
 14. Meya DB, Manabe YC, Castelnovo B, Cook BA, Elbireer AM, Kambugu A, et al. Cost-Effectiveness of Serum Cryptococcal Antigen Screening to Prevent

Deaths among HIV-Infected Persons with a CD4⁺ Cell Count <100 Cells/μL
Who Start HIV Therapy in Resource-Limited Settings. Clin Infect Dis [Internet].
2010;51(4):448–55. Available from:
<http://cid.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1086/655143>

15. Lw C, Wt P, Ge K, Rutherford G, Chang LW, Phipps WT, et al. Antifungal interventions for the primary prevention of cryptococcal disease in adults with HIV (Review) Antifungal interventions for the primary prevention of cryptococcal disease in adults with HIV. 2009;(3):2–4.
16. Apisarnthanarak A ML. The impact of primary prophylaxis for cryptococcosis on fluconazole resistance in Candida species. J Acquir Immune Defic Syndr. 2008;47:770–6.
17. Haddow LJ, Colebunders R, Meintjes G, Lawn SD, Elliott JH, Manabe YC, et al. Cryptococcal immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-1-infected individuals: proposed clinical case definitions. Lancet Infect Dis [Internet]. Elsevier Ltd; 2010;10(11):791–802. Available from:
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70170-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70170-5)
18. Boulware DR, Meya DB, Muzoora C, Rolfes MA, Huppler Hullsiek K, Musubire A, et al. Timing of antiretroviral therapy after diagnosis of cryptococcal meningitis. N Engl J Med [Internet]. 2014;370(26):2487–98. Available from:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4127879&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
19. Riveiro-Barciela M, Falcó V, Burgos J, Curran A, Van den Eynde E, Navarro J, et al. Neurological opportunistic infections and neurological immune reconstitution syndrome: Impact of one decade of highly active antiretroviral

- treatment in a tertiary hospital. *HIV Med.* 2013;14(1):21–30.
20. Bisson GP, Molefi M, Bellamy S, Thakur R, Steenhoff A, Tamuhla N, et al. Early versus delayed antiretroviral therapy and cerebrospinal fluid fungal clearance in adults with HIV and Cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis.* 2013;56(8):1165–73.